

JAX® MICE, CLINICAL AND RESEARCH SERVICES

感染症研究のための ヒト化 NSG™ マウス

要旨

ヒト化 NSG™ マウスは、研究者ならびに創薬科学者によって利用されている。ヒト化 NSG™ マウスは、造血、炎症性疾患、ウイルス感染における宿主と病原体の相互作用などを研究するための強力なツールであり、また HIV 感染や腫瘍の新たな治療法開発を促進している。ヒト化マウスを用いてインパクトの強い研究をおこなうためには、ヒト化マウスの開発ならびにそれぞれの研究に適した適切なモデルの選択法について考慮することが重要である。



*NSG は、ジャクソン研究所の商標である。

目次

治療薬の開発における躍進を可能にする	3
トランスレーショナルツールを作製する	4
ヒト化マウスへの重要なステップ	6
最適なヒト化マウスモデルを選択する	7
CD34+ ヒト化マウス	7
ヒト化末梢血単核細胞 NSG マウス	8
感染症研究のための次世代マウス：ヒト化 NSG 変異系統	8
NSG-SGM3	11
NSG 系統か NSG 変異系統か？	12
ヒト化 NSG マウスの研究への応用	13
HIV	14
HIV 治療研究瞥見	14
デングウイルス	15
エプスタインバー（EB）ウイルス感染症	16
B 型肝炎ウイルス	17
結核菌	18
ヒト化 NSG マウスの入手方法	18
参考文献	19

治療薬の 開発における躍進を 可能にする

ヒト化 NOD scid γ (ヒト化 NSG) マウスは、高い罹患率と致死率を有するウイルス感染症（たとえば、デング熱ウイルス感染症や EB ウイルス感染症）を治療したり撲滅したりするための新たな希望を提供する。新たな治療法を開発する際の本質的な限界のひとつは、ウイルスが感染し、複製し、免疫細胞が機能するためのヒト細胞やヒトタンパク質を有する、適切な *in vivo* の疾患モデルがないことである。また、そのような疾患モデルは、研究室において容易に維持することができるものでない限り維持できない。このような限界は、現在では、著しく減少している。ヒト化 NSG マウス（ヒト細胞を移植した重度免疫不全マウス）の登場によって、研究者ならびに創薬科学者は、現在では、小動物モデルを利用することができるようになった。ヒト化 NSG マウスの体内では、ヒトの造血や免疫が機能している。この小動物モデルの出現によって、ヒトに特異的なウイルス性疾患の病態に関するわれわれの理解が飛躍的に進んだ。ヒト化 NSG マウスは、さまざまな予防介入法の前臨床試験における有効性評価に利用されている。

ヒト化 NSG マウスの登場によって、研究者ならびに創薬科学者は、現在では、ヒトの造血や免疫が機能している小動物モデルを利用することができるようになった。

トランスレーショナル ツールを作製する

感染症、とくに HIV 研究のための動物モデルを開発することは困難であった。研究者たちは、ヒト造血組織を移植してヒト免疫系を確立することができるマウス系統を開発しようとしてきた (Ishikawa et al., 2005)。ヌードマウスや scid (重症複合型免疫不全) マウスのような初期の自然発生突然変異マウスは、ヒト造血組織の移植レシピエントとしては不十分であることがわかっていった。胸腺をもたないヌードマウスは T 細胞のみを欠損し、また scid マウスは T 細胞および B 細胞をともに欠損しているものの、この 2 つの系統においては、長期間にわたって多系統のヒト造血細胞を維持することはできなかった。最初の scid マウス (C.B-17-Prkdcscid) の遺伝的背景が BALB/c であることと NK 細胞の機能が残っていることが長期間にわたるヒト造血細胞の維持の根本的な障壁となっていた。非肥満糖尿病 (NOD/ShiLtJ) マウスを遺伝的背景とする scid コンジェニックマウス (NOD scid マウス: NOD. CB17-Prkdcscid/J) が作製されたとき、ヒト造血細胞の生着は改善された。しかし、ヒト細胞のキメラ現象の程度は低く、リンパ系細胞 (とくに T 細胞) の増殖の程度もきわめて低かった (Shultz et al., 2007)。そのとき、飛躍的進歩が訪れた。IL-2 γ レセプター遺伝子 (Il2rgtm1Wjl) のヌル変異を遺伝子操作によって NOD scid マウスに誘導したのだ (Ishikawa et al., 2005)。この系統は、一般的に、NSG (NOD、

scid、 γ の頭文字) マウスとよばれている。NSG マウスは、重度免疫不全マウスであるので、ヒト化が可能になった。NSG マウスの遺伝的背景は NOD (非肥満糖尿病) 系統であり、4 つの主要な表現型をもつ。すなわち、溶血性補体 (Hc0) の欠損、ユニークな Sirp α アレルの多型性 (マクロファージがヒト CD47+ 細胞へと活性化されるのを防ぐ) ならびにマクロファージおよび NK 細胞機能の低下である。Prkdcscid 変異は、成熟 B 細胞および T 細胞の発達をブロックする。Il2rgtm1Wjl ヌル変異は、マウスのサイトカインシグナル伝達を低下させ、NK 細胞の発達を抑制する。したがって、NSG マウスは、長期間にわたって多系統のヒト造血幹細胞の生着を支え、ヒトドナー細胞によるキメラ現象の割合も高い (図 1)。生着した成熟造血細胞は、広範囲にわたるヒト免疫機能を発揮することができる (Shultz et al., 2012)。

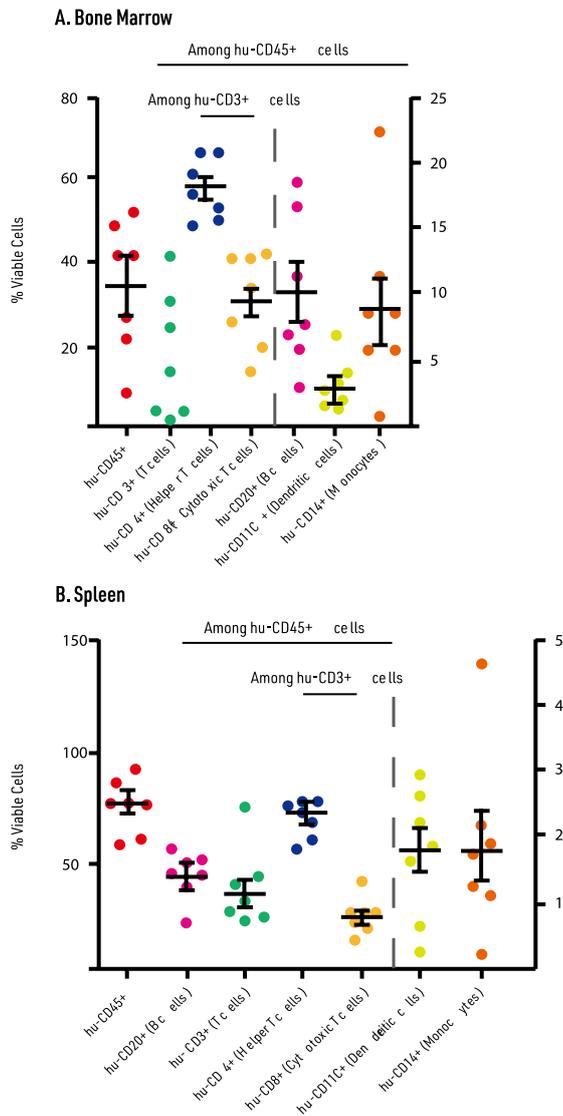


図 1.

NSG マウスは、B 細胞、T 細胞、樹状細胞、単球を含む多系統のヒト造血幹細胞の生着を支える。

ヒト造血幹細胞を移植された NSG マウスは、きわめて強固な生着効率を示す。生着効率は、ヒト白血球に特異的な細胞マーカーを用いてフローサイトメトリーで測定した。(A) 骨髄中のヒト生細胞のパーセント。(B) 脾臓中のヒト生細胞のパーセント。データは、ジャクソン研究所 JAX® In Vivo ファーマコロジー・サービス (In Vivo Pharmacology Services) により提供された。

ヒト化マウスへの重要なステップ

NSG マウスは、すべての重度免疫不全系統のなかで、最も高いヒト造血幹細胞の生着率を有すると報告されている

NSG マウスにヒト造血細胞を移植する方法はたくさんあるが、長期間にわたって生着を成功させるための基本的な2つのステップを記載する。

1. 宿主の造血に関する骨髄除去。これにより、ドナーの幹細胞生着のためのニッチが形成される。その結果、ドナー細胞は、末梢器官や組織における分化および増殖の過程において競争上の優位性を得ることができる。
2. 細胞表面マーカー（ヒト CD34+）にもとづいた、造血幹細胞系および前駆細胞系におけるヒト細胞の濃縮。

大量の造血幹細胞を得ると同時に、移植片対宿主病（GVHD）をひき起こすヒト成熟免疫細胞を除去するためには、CD34+細胞を選別することが重要である。

NSG マウスにおけるヒト造血幹細胞の生着を達成するために、いくつかの異なる年齢のマウスと投与経路が使われてきた（図2）。新生マウスは、通常、心臓内または肝臓内に注射をされた。なぜなら、このような幼若な年齢においては、静脈の構造が脆いからである（Pearson et al., 2008）。新生マウスに注射をする利点は、ヒトドナー細胞によるキメラ現象の割合が高いこと、ならびに分化してできた成熟リンパ系細胞および骨髄系細胞の免疫機能が高いことである。これは、宿主の未成熟造血細胞分画の発達段階においてドナー造血幹細胞を移植

したことで、ならびに発達中の胸腺上皮細胞がきわめて多数存在するからであると考えられている（Brehm et al., 2010）。しかし、新生マウスに移植する方法は技術的にむずかしく、死亡率が高くなることも多い。

幼若マウスまたは成体マウスへの移植は、尾静脈への注射によっておこなうことができるので、必要な技術も容易なものであり、注射に関連する死亡も減少させることができる。3週齢の若いマウスを用いることにより、骨髄および胸腺の微小環境が発達段階にあること、その結果、ヒトドナー細胞によるキメラ現象の割合が高いことおよびT細胞の発達がよいことといった利点が得られる。若いマウスに注射をする場合は、成体マウスへの移植にくらべて、マウスコロニーの管理という観点からやや多くの労力が必要である。成体マウスにおいては、大腿骨の骨髄腔内に直接移植する方法が使われている。骨髄腔内に直接移植することにより、適切なニッチへホーミングする必要性を省略することができる。しかし、この方法は技術的にさらにむずかしい（McDermott et al., 2010）。

ヒトドナー造血幹細胞は、複数のヒトから採取することができるので、得られる総細胞数もまちまちである。またドナーによって、ドナー細胞の生着効率が異なることにも注意しなければならない。とくに細胞数が限られている場合は、レシピエントNSGマウスの性別も生着効率に影響を及ぼすことがある。ドナー造血幹細胞数が少ないときは、雌のレシピエントマウスのほうが生着効率がよい。しかし、使用する細胞数が増加するにしたがって、雌雄差は減少する（Notta et al., 2010）。

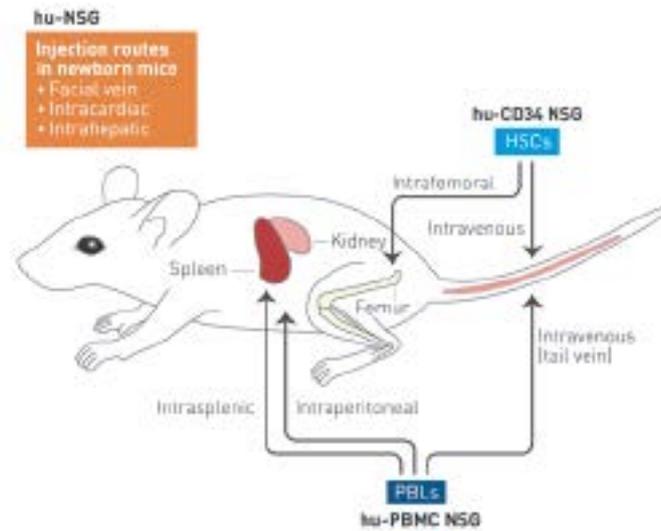


図2. 免疫不全 NSG マウスへのヒト免疫系の移植方法

ヒト化 CD34 NSG マウスを確立するためには、造血幹細胞をレシピエント成体マウスの静脈内または大腿骨内へ注射する。新生マウスの場合には、造血幹細胞を顔面静脈内、心臓内、または肝臓内に注射する。腹腔内注射は、新生マウスにおいても成体マウスにおいても、生着効率がきわめて悪い。ヒト化末梢血単核細胞 NSG を確立するためには、ヒト末梢血単核細胞を NSG マウスに移植する。すなわち、ヒト末梢血単核細胞を静脈内、腹腔内、または脾臓内に注射する。出典：Shultz et al., 2012 (Nat Rev Immunol 12:786-798)

最適なヒト化マウスモデルを選択する

最適なヒト化マウスモデルの選択は、研究目的および必要な研究期間の影響を大きく受ける。すべてのモデルの利点について理解しておくことによって、それぞれの研究の必要性に適したモデルを決定することができる。NSG の変異系統は急速に増加しており、また CRISPR/Cas のような強化されたゲノム編集技術の出現によって、マウスモデルの「カスタム化」が可能になった。このような技術によって既存の系統を迅速に改変し、それぞれの研究への応用をさらに後押しすることができるようになった（さらに詳しい情報については、jax.org/crispr を参照されたい）。

CD34+ ヒト化マウス

上記いずれかの方法によって作製されたヒト化 CD34+ マウスは、多系統の造血細胞

の生着を可能にする。CD34+ 細胞は、宿主の骨髄にホーミングする。それらの細胞が分裂・分化して、その子孫細胞が末梢血中にフローサイトメトリーによって検出されるようになるまでには、一般的に 12 ~ 14 週間を要する (Pearson et al., 2008, Brehm et al., 2010)。分化したヒト免疫細胞は、獲得免疫を含む、あらゆる種類のヒト免疫細胞の機能を示す。このモデルの利点は、長期間にわたる、きわめて安定した生着が可能であり、しかも、ドナー細胞が宿主の組織に対して免疫反応を起こさないということである。可能性のある懸念事項としては、ヒト T 細胞の選別がマウス主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) の環境下で起こること、ならびにマウス体内における粘膜免疫がきわめて弱いことが挙げられる (Shultz et al., 2012)。その他の重大な懸念事項は、移植後最初の数週間において、マウスが病原体に対してきわめて脆弱なことである。なぜなら、機能をもった成熟免疫細胞が分化するためには、12 ~ 14 週間を要するからである。免疫することに

よって、B 細胞が刺激されて IgM が作られるが、このマウスにおいては、通常、充分な量の IgG は作られない。その理由は、おそらく、リンパ節や脾臓において胚中心がうまく形成されないこと、ならびに（または）特異的なヒト成長因子が産生されないことによるものであろう。

ヒト化末梢血単核細胞 NSG マウス

ヒト末梢血単核細胞を NSG マウスに養子移植し、レシピエントマウス体内で短期間循環させることができる。この方法の利点は、容易かつ迅速に循環 CD4+ T 細胞を確立できることである。なぜなら、骨髄除去をおこなう必要がなく、また成体マウスに静脈内注射をすることができるからである (Pearson et al., 2008)。したがって、ヒト化末梢血単核細胞 NSG マウスは、成熟ヒト CD4+ T 細胞をもつマウスを迅速かつ容易に作製するためには理想的なマウスである。この成熟ヒト CD4+ T 細胞は、ウイルス感染やウイルスの複製を支えることができる。この方法の欠点は、成熟ヒト免疫細胞が宿主を非自己と見なして移植片対宿主病 (GVHD) が始まり、移植後 30 日ころまでに、レシピエントマウスに重篤な消耗病をひき起こすことである (King et al., 2009)。それにもかかわらず、このモデルは、迅速にレシピエントマウスを作製し、短期間の実験を実施するという観点からは、強力なツールである。

ヒト化 CD34 NSG マウスは、長期間にわたって、きわめて安定した生着を可能とし、しかも、ドナー細胞が宿主の組織に対して免疫反応を起こさない。

感染症研究のための次世代マウス：ヒト化 NSG 変異系統

ヒト化免疫不全マウスを洗練させることによって、感染症研究がさらに発展することが期待される。理想的なヒト化マウスモデルを作製することにおけるゴールは、内因性のマウス造血系および免疫系を完全に（位置的にも機能的にも）ヒトの造血系および免疫系に置き換えることである。理想的な条件には、次の3つの主要な要件がある。(1) 移植されたヒト細胞がマウスの免疫系によって攻撃されないこと。(2) ヒト細胞のためのニッチが存在すること。(3) 形成されたニッチにおいて、適切な交差反応性サイトカインならびに支援シグナルが存在すること (Theocharides et al., 2016)。

移植された細胞に対する免疫寛容に関しては、Il2rgtm1Wjl ヌル変異マウスが、ヒト化マウス作製の進展に大きな役割を果たした。なぜなら、この変異マウスにおいては、移植細胞の生着を制限する主要な細胞である NK 細胞の発達が完全にブロックされているからである。CD47-SIRP α 軸の発見も重要である。なぜなら、NOD の Sirpa アレルは、ヒト CD47 と交差反応し、マウスのマクロファージが移植されたヒト細胞を破壊するのを防ぐからである。

また、移植されたヒトの細胞も宿主に対して免疫寛容になっていなければならない。NSG 変異系統は、移植されたヒト細胞が宿主マウスを攻撃することにつながる要因に打ち勝つための他の戦略を用意して

いる。その戦略とは、マウスにおける移植片対宿主病 (GVHD) の主要な標的、すなわちマウス主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) を除去することである (Brehm et al. 2014, King et al., 2008)。マウスの β 2-ミクログロブリンを除去することによって、移植細胞の生着を増進し、移植片対宿主病 (GVHD) を遅らせることができる。たとえば、MHC クラス I 欠損モデルである NOD.Cg-Prkdcscid B2mtm1Unc Il2rgtm1Wjl/SzJ マウス (ストック番号 010636) においては、ヒト末梢血単核細胞の生着が増進している (King et al., 2009)。

ニッチを形成させるためには、しばしば放射線照射がおこなわれる。しかし、遺伝学的方法を用いることも可能である。C-kit (CD117) 遺伝子は、造血幹細胞の生存、分裂、ならびに分化において重要な役割を果たしている。機能的な c-kit 遺伝子を欠損するマウスにおいては、幹細胞の数が少ないので、移植されたヒトの細胞は、骨髄に生着するうえで競争上の優位性をもっている。したがって、事前に宿主マウスに放射線を照射する必要性がなくなるのである (Theocharides et al., 2016)。同様な効果は、ヒト kit リガンド (幹細胞因子: SCF) を発現するトランスジェニックマウスにおいてもみられる。この効果は、NOD. Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(PGK1-KITLG*220)441Daw/SzJ (ストック番号 017830) マウスを使った実験において示されている。すなわち、放射線照射をおこなわずに、ヒト造血幹細胞を生着させることができたのである (Brehm, et al. 2012)。

おそらく、進歩が期待される最も重要な領域は、サイトカインシグナルの増大にかかわる領域である。それによって、移植されたヒト細胞の機能発達がより支えられるであろう。たとえば、感染症研究のためのヒト化マウスをさらに普及するのに障壁となることのひとつは、ヒト化マウスにおける液性免疫反応が弱いことであった。ヒト化マウスにおける抗原特異的なヒト抗体産生応答は実証されてきたものの、IgG 応答はきわめて弱い状態である。このことは、B 細胞の免疫グロブリンクラススイッチがうまく機能していないことを示している。その理由は、まだ完全には理解されていないものの、クラススイッチができないからではなく、T 細胞と B 細胞が適切に相互作用することができないからであると考えられている。この欠点は、ヒト胸腺を一緒に移植したり、あるいは遺伝子導入により、HLA クラス I およびクラス II 遺伝子を同時に発現させたりすることにより克服することができる。これらのいずれの方法によっても、胸腺における T 細胞の教育ならびにヒト HLA 抗原分子に対する拘束性の獲得が適切におこなわれ、その結果、T 細胞と B 細胞の相互作用がより適切におこなわれるようになる (Akkin, 2013)。現在、感染症研究のために利用されている NSG 変異系統モデルを表 1 に示す。

NSG マウスを「バックボーン」として利用することによって、改善が進行中である。その改善によって、特定の細胞系統の分化における欠陥を修正し、移植されたヒト免疫細胞の機能的側面の改善が期待される。これらの改善のなかには、免疫グロブリンクラススイッチ、抗体産生、ヒト免疫細胞における記憶細胞応答などが含まれる。他方、ヒト組織の生着を妨害する、残

存するマウスの自然免疫系の機能を低下させる。その結果、実験結果の解釈を混乱させる可能性のある要素も減らすことができる(図3)。「次世代」の感染症研究は、ヒト MHC クラス I またはクラス II 抗原の発現を促進する外来遺伝子を有するモデルを利用することによって恩恵を被るであ

う。このモデルにおいては、胸腺における T 細胞の教育、T 細胞と B 細胞の相互作用、および(または)マウス MHC の欠損が促進されているので、移植細胞の生着は増進する一方、移植片対宿主病(GVHD)は遅延する。

表 1. NSG HLA クラス I およびクラス II 変異系統を利用したさまざまな感染症研究に関する最近の報告

HLA クラス I トランスジェニック変異系統

NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl} Tg(HLA/H2-D/B2M)1Dvs/SzJ (014570)

- ヒト HLA クラス I 重鎖および軽鎖 (A2.1 ハプロタイプ) を発現する。ヒト T 細胞は、ヒト HLA クラス I 抗原と相互作用することができるので、胸腺での選別過程における欠陥を克服できる。
- 成熟細胞傷害性 T 細胞が発達し、ヒトのウイルス感染に対して防御的に機能する HLA 拘束性の T 細胞反応が起こる。
- In vivo における、広範囲にわたる機能的なヒト T 細胞サブセットの分化を支える。
- ヒト β 2- ミクログロブリンが発現しているため、ヒト末梢血単核細胞の生着は増進し、他方、移植片対宿主病 (GVHD) は遅延する。

Shultz et al. 2010. [PMID: 20615947]
Jaiswal et al. 2009. [PubMed: 19802382]

NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl} Tg(HLA-A2.1)1Enge/SzJ (009617)

- ヒト HLA クラス I 外来遺伝子 (A2.1 ハプロタイプ) を発現する。ヒト T 細胞は、ヒト HLA クラス I 抗原と相互作用することができるので、胸腺での選別過程における欠陥を克服できる。
- 成熟細胞傷害性 T 細胞が発達し、ヒトのウイルス感染に対して防御的に機能する HLA 拘束性の T 細胞反応が起こる。
- In vivo における、広範囲にわたる機能的なヒト T 細胞サブセットの分化を支える。

Billerbeck et al. 2013. [PubMed ID: 23833235]
Wang et al. 2014 PMID: 24371056.
Keskin et al. 2015 [PubMed: 25646416]

HLA クラス II トランスジェニック変異系統

NOD.Cg-Rag1^{tm1Mom} Il2rg^{tm1Wjl} Tg(HLA-DRA,HLA-DRB1*0401)39-2Kito/ScasJ (017914)

- “DRAG” 系統は、キメラ HLA クラス II DR4 外来遺伝子 (HLA-DRA/HLA-DRB1*0401) を発現する。
- HLA クラス II 分子の発現は、免疫グロブリンクラススイッチの増進およびワクチンに対する効果的な応答を支える。
- ヒト CD4+ および CD8+ T 細胞サブセットならびにヒト B 細胞の機能が強化している。
 - ヒトサイトカインの分泌
 - ヒト IgM、IgG、IgA、ならびに IgE 血清レベルの再構築
 - ワクチン接種後の特異的 IgG 抗体の惹起
- HLA-DR の適合した造血幹細胞の生着を増進することができる。

Danner et al. 2011. [PubMed: 21611197]

NSG-SGM3

最も有望な改善のひとつは、一般的に NSG-SGM3 とよばれるモデルである。このモデルにおいては、NSG マウスが3つの外来遺伝子産物である造血サイトカインを発現する。すなわち、ヒト幹細胞因子 (SCF、スチールファクターともよばれる)、ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、ならびにヒトインターロイキン-3 (IL-3) である。これらのサイトカインはすべて、ヒトサイトメガロウイルスプロモーター/エンハンサー配列によって発現される。トリプルトランスジェニックマウスである NSG-SGM3 は、2~4 ng/ml の血清レベルのヒト SCF、GM-CSF、ならびに IL-3 を構成的に産生する。さらに時間の経過とともに、明確な細胞分裂および生存シグナルを惹起す

る。このマウスモデルは、いくつかのタイプのリンパ系細胞を含む、CD33+ 骨髄細胞系列の安定的な生着を支える。その結果、NSG-SGM3 においては、他の既存のモデルにくらべて、多様な造血系統がよりよく生着することができる。

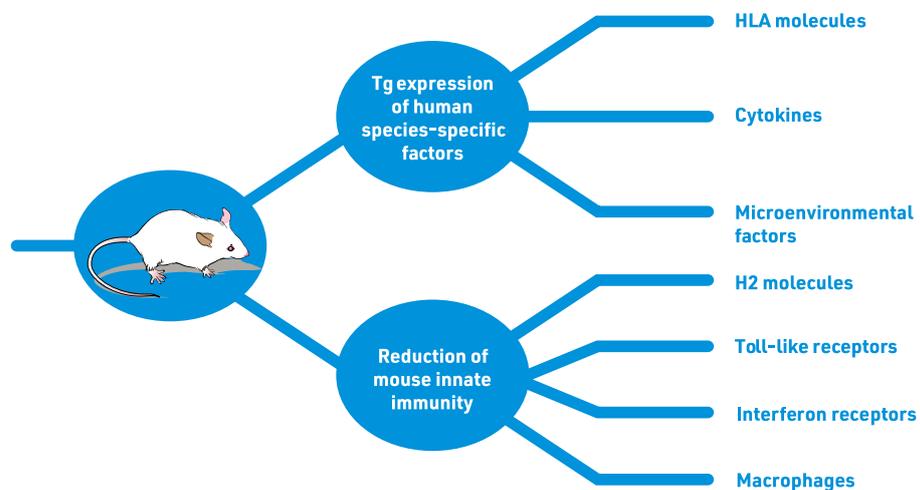
ヒト化 NSG™ モデルにくらべて、ヒト化 NSG™-SGM3 においては、次に記載するヒト免疫細胞の数が多 (図 4) :

- CD33+ 骨髄性細胞
- 造血幹細胞
- 骨髄性前駆細胞
- マスト細胞
- 骨髄樹状細胞
- T細胞 (CD3+)
- ヘルパー T細胞 (CD4+)
- 細胞傷害性 T細胞 (CD8+)
- 制御性 T細胞 (CD4+, CD25+, FoxP3+)

図 3.

「次世代」の NSG 変異系統マウスは、ヒト免疫系の生着および機能発現を支えることによって、さらなる改善をもたらす。その結果、ヒト感染症研究における、これまでのヒト化マウスの障害を克服することができる。

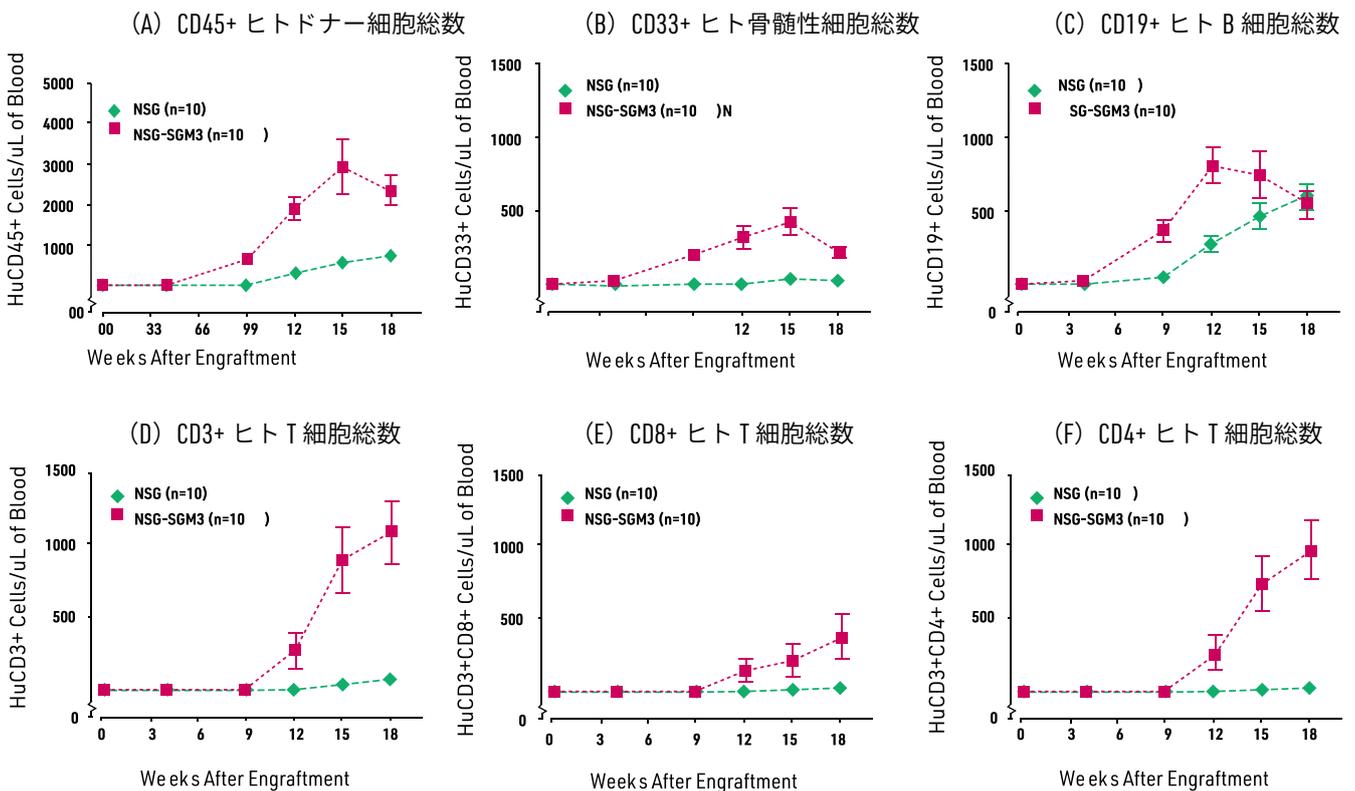
この改善は、ヒト分子、ヒトサイトカイン、ならびにその他のヒト特異的因子の発現の増加によってもたらされる。また、マウスの免疫系の影響はさらに抑制されている。出典：Brehm et al., 2014 (J Immunol. Methods 410: 3-17)



NSG 系統か NSG 変異系統か？

NSG 系統は高度免疫不全系統であり、現在、マウスにおいて、ヒト免疫系を再構築するためのすぐれたモデルになっている。しかし、NSG-SGM3 変異系統を利用すれば、NSG 系統にくらべて、より強固な実験結果が得られるであろう。とくに、CD33+ 骨髄細胞系列や制御性 T 細胞を含むいくつかのタイプのリンパ系細胞の生着を必要とする研究においては、より強固な実験結果が得られる。さらに他の変異遺伝子を有する NSG 系統も、それぞれの研究に特異的な課題によっては、有用であろう。

図 4.
NSG 系統および NSG-SGM3 変異系統間における末梢血中の生着細胞数の比較
(細胞数 / μ L)
(A) CD45+ ヒトドナー細胞総数、(B) CD33+ ヒト骨髄性細胞総数、
(C) CD19+ ヒト B 細胞総数、(D) CD3+ ヒト T 細胞総数
(E) CD8+ ヒト T 細胞総数、(F) CD4+ ヒト T 細胞総数)



ヒト化 NSG マウスの研究への応用

ヒト化マウスは、ヒトの生物学的機能や疾病のモデルのためのきわめて貴重なツールとなっている。なぜなら、ヒト化マウスは、ヒト以外の霊長類のすぐれた代替動物となるからである。ヒト感染症の多くの側

面は、侵入、増殖、ならびに病原性に関して、ヒトという種の特異性にきわめて大きく依存している。

NSG マウスは、マウスの免疫系抑制が增強しているため、これまで不可能であった研究を可能にした。感染症のさまざまな領域における最近の論文リスト（抜粋）を表 2 に示す。いくつかの論文に焦点を合わせて、以下に詳細に記載する。

表 2. 感染症のさまざまな領域における最近の論文リスト

ウイルス感染症	
サイトメガロウイルス	Livingston-Rosanoff et al. 2012. [PubMed ID: 22993151]
デングウイルス	Sridharan et al. 2013. [PubMed ID: 23966397]
エボラウイルス	Spengler et al. 2016. [PubMed ID: 27601621]
エプスタインバー (EB) ウイルス	Ma et al. 2012. [PubMed ID: 22623780]; Wahl et al. 2013. [PubMed ID: 23468485]
B 型肝炎ウイルス	Bility et al. 2014. [PubMed ID: 24651854]; Billerbeck et al. 2013. [PubMed ID: 23833235]; Sonntag et al. 2015 [PubMed ID: 26143958]
HIV	Boska et al. 2015. [PubMed ID: 25523287]; Lu et al. 2014. [PubMed ID: 24593860]; Nixon et al. 2013. [PubMed ID: 23886835]; Sampay et al. 2015. [PubMed ID: 26553869]; Li et al. 2013. [PubMed ID: 23587921]; Seay et al. 2015 [PubMed ID: 25833053]; Zhang et al. 2013. [PubMed ID: 23403120]
インフルエンザ	Balazs et al. 2013. [PubMed ID: 23728362]
麻疹	Boussaad et al. 2011. [PubMed ID: 21593150]
水痘帯状疱疹	Rowe et al. 2010. [PubMed ID: 20307580]
細菌感染症	
敗血症	Ernst et al. 2013. [PubMed ID: 23439310]; Skirecki et al. 2015. [PubMed ID: 26272069]
結核	Calderon et al. 2013. [PubMed ID: 23691024]; Heuts et al. 2013. [PubMed ID: 23559373]; Lee et al. 2013. [PubMed ID: 24313934]
真菌感染症	
カンジダ・アルピカンス	Quintin et al. 2014. [PubMed ID: 24802993]
原虫感染症	
リーシュマニア	Wege et al. 2012. [PubMed ID: 22848771]
マラリア	Jiménez-Díaz et al. 2013. [PubMed ID: 23825598]

HIV

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）は、CD4+ヘルパー T 細胞を破壊する。その結果、患者は免疫不全に陥り、感染症に対して脆弱になる。ヒト化マウスは、これまで調べられたすべての HIV 初代ウイルス株ならびに実験室で作製されたシールドタイプ HIV ウイルスに感染する。骨髄、肝臓、胸腺をヒト化されたモデルは、すぐれた粘膜免疫を示す。なぜなら、T 細胞の教育と拘束がヒト胸腺の中で起こるからである。しかし、もっと単純なヒト化マウスにおいてモデル化することのできる重要な HIV 発病機序の側面もある。たとえば、図 5 に示すように、移植前に、遺伝子編集技術によって細胞を改変する研究がおこなわれ

ている。具体的には、移植前に、ジンク・フィンガーヌクレアーゼによって CCR5（重要な HIV コレセプターのひとつ）を破壊すると、脾臓や腸管においてヒト T 細胞が長期にわたって存続する。他方、ヒト CD34+ NSG マウスにおいては、HIV の感染によって、（ジンク・フィンガーヌクレアーゼ）未処置の細胞数は劇的に低下した（図 5）。

HIV 治療研究瞥見

ヒト化 NSG マウスを用いて HIV 感染および関連疾患を正確に再現することができるので、広範囲にわたる新たな研究への扉が開かれた。

表 3. 現在における、ヒト化マウスを用いた応用

- 新たな抗レトロウイルス化合物および多剤療法の前臨床開発
- 粘膜を介したウイルス感染をブロックするための局所薬剤投与を利用した予防法
- 筋注アデノ随伴ウイルスを用いた HIV 中和抗体発現
- 遺伝子治療ならびに細胞工学
 - 造血幹細胞の輸注ならびに細胞移植
 - 改変された HIV レセプター（CD4、CCR5、CXCR4）の細胞表面発現
 - siRNA 法を利用して、ウイルス感染およびウイルス複製に必要な細胞分子およびウイルス分子のはたらきを抑制する
 - 転写後遺伝子抑制
 - 転写レベル遺伝子抑制
 - 宿主またはウイルスによってコードされた RNA を標的分解するように設計されたリボザイムを作製する
 - RNA デコイおよびアプタマーを作製する
 - ジンク・フィンガーヌクレアーゼ、TALEN、または CRISPR を利用して CCR5 および（または）CXCR4 をノックアウトする
 - ベクター免疫予防法

デングウイルス

デングウイルスには、いくつかの血清型がある。異なる血清型のデングウイルスに続けて感染すると、より重篤なタイプのデング出血熱をひき起こすと考えられている。ヒト化 NSG マウスを利用した感染モデルにおいては、初感染のメカニズムならびに異なる血清型のウイルスの二次感染の病態を区別して調べることができる。ヒト CD34+NSG マウスには、さまざまな異なるタイプのデングウイルスを感染させることができ、ウイルス血症、発熱、紅斑、血小板減少症などをひき起こすことができる

(Mota and Rico-Hesse, 2009)。ウイルス血症や臨床病態の持続期間は、蚊の刺咬によって長くすることができる (Cox et al., 2012)。ヒト CD34+NSG マウスにおける大きな制約は、デングウイルスに対するヒト IgG 抗体の産生がきわめて弱いことである。それにもかかわらず、ヒト化マウスは、抗デングウイルス抗体の効果を調べるために、前臨床研究において使われてきた。これらの抗体は、4つの血清型すべてのデングウイルスを交差中和することができるような構造にもとづいて設計されている (Robinson et al., 2015)。

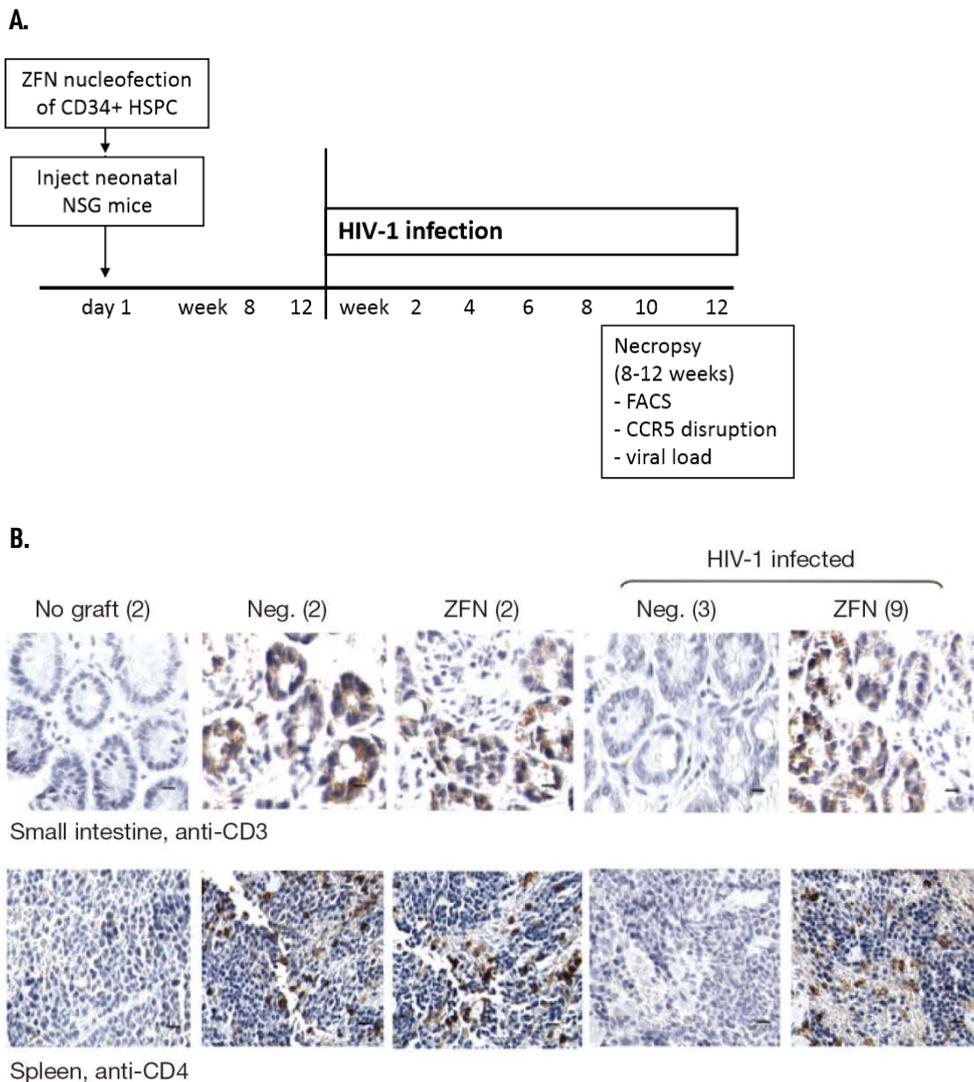


図 5.

NSG マウスを用いて、ジンク・フィンガーヌクレアーゼによって CCR5 (重要な HIV-1 コレセプターのひとつ) を破壊すると、感染にともなう重度の CD4+T 細胞減少を防げることを示す。

(A) 実験方法の図解。(B) 免疫組織化学。NSG マウスの小腸におけるヒト CD3 発現ならびに脾臓におけるヒト CD4 発現。NSG マウスは、未処置 (Neg.) またはジンク・フィンガー (ZFN) で処置したヒト CD34+ 幹細胞前駆細胞を移植された。左から右へ：移植されていない対照、未処置対照 (neg)、ジンク・フィンガー処置群 (HIV-1 感染または非感染)。() 内の数字は各群の動物匹数。出典：Holt et al., 2010 (Nature Biotechnology, 28(8):839-47)

エプスタインバー（EB）ウイルス感染症

エプスタインバーウイルス（EBV）は、ヒトに特異的なウイルスであり、B細胞および上皮細胞に感染し、一生にわたって持続感染する。EBVは急性単核球症をひき起こし、ときには、バーキットリンパ腫やホジキンリンパ腫のようなリンパ増殖性疾患もひき起こすことがある（Akkina, 2013）。ヒト CD34+NSG マウスの腹腔に EBV を感染させた細胞を注射すると、EBV に感染させることができる（Strowig et al., 2009）。感染 4 週後においても、マウスの脾臓において EBV 感染細胞を検出することができる。また、EBV 特異的なヒト CD8+ 細胞傷害性 T 細胞も検出することができる。In vivo において EBV 感染を制御する際におけるヒト T 細胞の役割

を調べるために、感染させたヒト化マウスの体内において、CD4+T 細胞および CD8+T 細胞を除去した。その結果、マウス体内において、より顕著な細胞溶解性 EBV 複製が観察された。すべてのマウスにおいて、脾臓、腸間膜リンパ節、ならびに腎臓および（または）肝臓における EBV 陽性腫瘍がみられた（図 6）。このマウスにおける腫瘍の発生は、免疫不全の EBV 感染患者においてみられる腫瘍発生の増加と同様の現象である。最近、ヒト化マウスを用いて、EBV のコードする RNA を除去しても、持続感染を防ぐことができないことが示された（Gregorovic et al., 2015）。これらの実験結果は、ヒト化 NSG マウスが EBV 感染の in vivo モデルとして重要な役割を果たすことを示している。

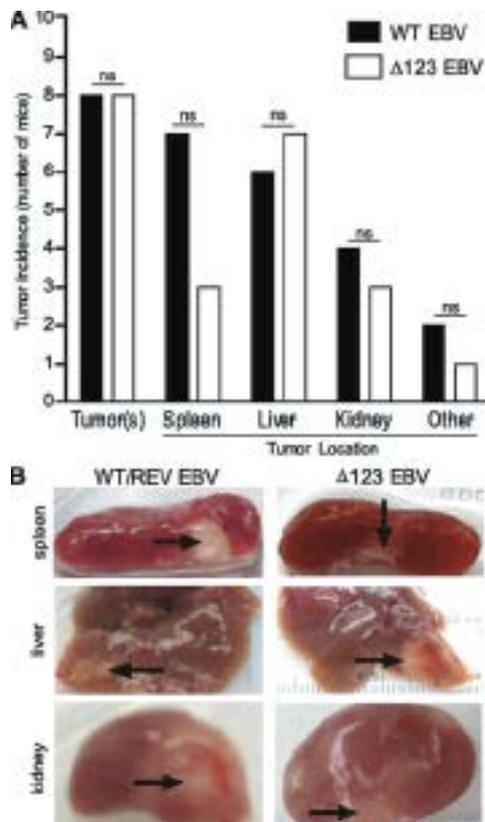


図 6. EBV がコードするマイクロ RNA は in vivo における腫瘍形成において役割を果たしていない

野生型 EBV または 3 つのマイクロ RNA を欠損する EBV を感染させたヒト化 NSG マウスのあいだにおいては、ウイルス誘発性の発癌には有意差はみられない。出典：Wahl et al., 2013 (J Virol 87: 5437-46. doi: 10.1128/JVI.00281-13/). 米国微生物学会の許諾を得て複製。

B 型肝炎ウイルス

慢性の B 型肝炎ウイルス (HBV) は、重篤な肝臓疾患をひき起こす。最初は、肝線維症や肝硬変から始まり、肝細胞癌へと進展する。現在の研究においては、HBV が宿主の免疫応答を免れて、慢性の感染症をひき起こすメカニズムを理解することに焦点が合わせられている。最近、ヒト HLA-A2.1 MHC クラス I 分子を発現する NSG の変異系統が慢性 HBV 感染の新たなモデルとして注目を集めている (図 7)。

ヒト CD34+ 前駆細胞およびヒト肝細胞前駆細胞と一緒に移植することにより、感染 10 ~ 16 週後に肝臓の病変が発現した。このモデルにおいては HBV が感染し、約 75% の感染マウスにおいて、少なくとも 4 か月にわたって持続感染が成立していた。感染マウスにおいては、慢性の活動性炎症と肝線維症が起こり、HBV コア抗原

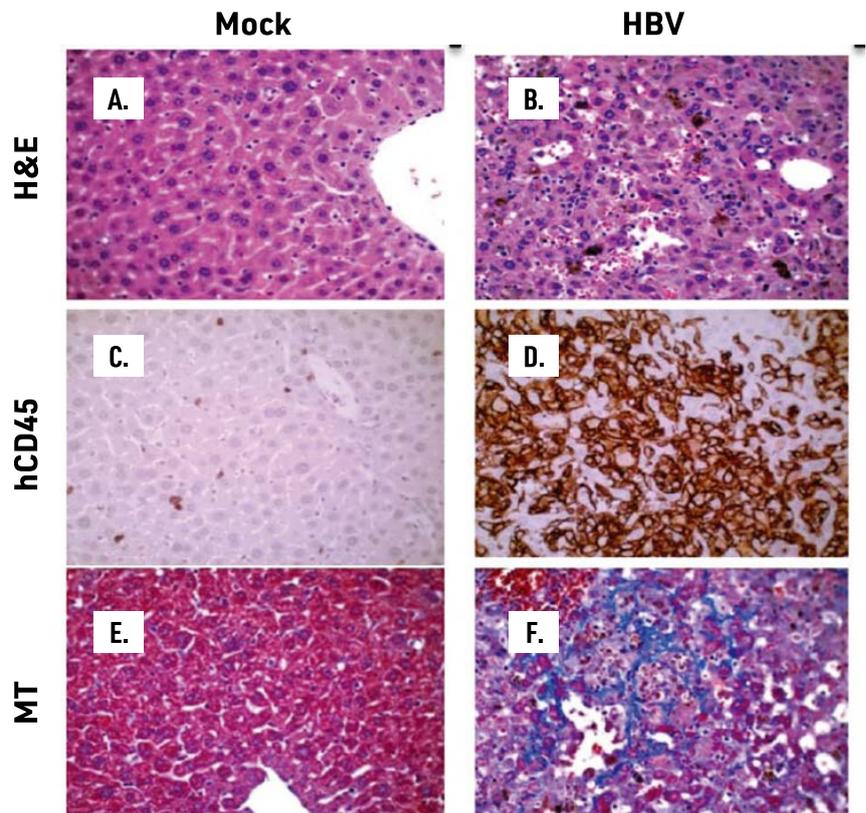
および表面抗原もみられた。このことは、活動性の感染が起こっていることを示している。このモデルを用いることにより、HBV に対する中和抗体が HBV 感染ならびに関連する肝疾患を防ぐことが証明された。また、HBV によってひき起こされる免疫能の低下ならびに肝病変において、マクロファージの極性化が重要な役割を果していることが示唆された (Bility et al, 2014)。

ヒト化 NSG マウスを用いた、他の異なるタイプの病原体モデルによる病変形成を示す研究も報告されている。ウイルスによって媒介される免疫細胞の増加や慢性活動性のウイルス媒介性線維症に加えて、細菌感染症ならびに原虫感染症のモデルを作製することも可能である。いずれのモデルにおいても、病理組織学的特徴はヒトのそれにきわめて類似している。

図 7.

ヒト化 CD34+ A2 NSG マウス (外来性のヒト HLA-A2.1 MHC クラス I 分子遺伝子を発現する) に同一のドナーから得たヒト肝細胞前駆細胞およびヒト幹細胞を注射し、HBV 感染によってひき起こされる慢性肝炎について調べた。

(A) 肝臓の H&E 切片では、対照群においては、HBV を感染させないときは炎症細胞が増加しないことが示されている。(B) 実験群においては、肝臓における有意な炎症細胞浸潤がみられる。(C) 対照群においては、CD45+ 細胞はほとんどみられない。(D) 感染後に浸潤している免疫細胞は CD45 強陽性である。(E) 対照群のマッソントリクローム染色 (MT) では病変はみられない。(F) 感染マウスにおいては、ヒト免疫細胞がひき起こした慢性炎症による線維症がみられる。出典: Bility et al., 2014 (PLOS Pathogens. 10(3):e1004032)



結核菌

最近、2つの研究グループによって、ヒト化 NSG マウスを結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*) 感染モデルとして利用できることを示す論文が発表された (Calderon, 2013, Heuts, 2013)。結核菌は重篤な呼吸器病の病原体であり、エアロゾルを介して伝播し、肉芽腫性炎症をひき起こす。また結核は、世界中の感染症のなかで、二番目に死亡者の多い感染症である。Heuts らは、結核菌を感染させたヒト化マウスにおいて、組織化された肉芽腫が形成されることを報告した。肉芽腫の中心部は壊死しており、その周囲は結合組織ならびにヒト CD45+T 細胞によってリング状に囲まれていた。肉芽腫形成は、宿主の防御反応のひとつであり、今や、ヒト化マウスにおいて効果的にモデル化することができるようになったのだ。

ヒト化 NSG マウスの入手方法

ヒトの造血幹細胞ならびにヒト組織の入手が困難なことが、この貴重な動物モデルの作製と普及の大きな障壁となっている。同様に、ヒト造血幹細胞の質の違いは大きく、またヒト造血幹細胞の質は、移植効率ならびに作製されたヒト化マウスの質に大きな影響を及ぼす。

科学者たちが容易にこのヒト化マウスモデルを入手することができるよう支援するために、ジャクソンラボラトリーは、次の資源を提供する。

- 在庫管理されたヒト CD34+ NSG マウスのコホートを迅速に研究室に輸送し、すぐに研究に使用できるようにする。
- ヒト末梢血単核細胞を移植した NSG マウスならびに NSG-SGM3 マウス。
- ジャクソンラボラトリー in vivo サービスーズ (JAX In Vivo Services) の科学者がオーダーメイドの薬効試験を実施する。

感染症研究領域におけるこれまでのヒト化マウスの制約が取り除かれた。これは、マウスの免疫能の抑制ならびに遺伝子による増強によって、ヒト細胞の生着ならびに分化が促進されることによって達成された。JAX モデルジェネレーションサービスーズ (JAX Model Generation Services) は、既存のモデルを改変して、それぞれの研究要件によりふさわしい in vivo モデルを作製することもできるであろう。

CRIPR ならびに他のモデルの開発に関するさらなる情報については、jax.org/model-generation を参照されたい。

JAX のヒト化マウスは、それぞれの研究者の施設へ直接輸送することができる。各施設への搬入後、通常 1~2 週間の馴化期間後に実験に使用することができる。移植するヒト造血幹細胞については、検査をおこなって、HIV、B 型肝炎ウイルス (HBV)、C 型肝炎ウイルス (HCV)、ならびにリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) フリーであることを確かめている。これらのヒト化マウスは、一般的な免疫不全マウスと同様に、高度バリア施設で飼育しなければならない。

翻訳：順天堂大学国際教養学部 久原 孝俊

参考文献

- Akkina R. 2013. New generation humanized mice for virus research: comparative aspects and future prospects. *Virology* 435(1):14-28. [PubMed: 23217612]
- Balazs AB; Bloom JD; Hong CM; Rao DS; Baltimore D. 2013. Broad protection against influenza infection by vectored immunoprophylaxis in mice. *Nat Biotechnol.* Jul;31(7):647-52. [PubMed ID: 23728362]
- Bility MT; Cheng L; Zhang Z; Luan Y; Li F; Chi L; Zhang L; Tu Z; Gao Y; Fu Y; Niu J; Wang F; Su L. 2014. Hepatitis B virus infection and immunopathogenesis in a humanized mouse model: induction of human-specific liver fibrosis and M2-like macrophages. *PLoS Pathog.* Mar 20; 10(3):e1004032. [PubMed: 24651854]
- Billerbeck E; Horwitz JA; Labitt RN; Donovan BM; Vega K; Budell WC; Koo GC; Rice CM; Ploss A. 2013. Characterization of Human Antiviral Adaptive Immune Responses during Hepatotropic Virus Infection in HLA-Transgenic Human Immune System Mice. *J Immunol.* Aug 15;191(4):1753-64. [PubMed ID: 23833235]
- Boussaad I; Varagnolo L; Hornich V; Rieger L; Krockenberger M; Stuehmer T; Kranzfelder D; Mueller AM; Schneider-Schaulies S. 2011. Wild-type Measles Virus (MV) interferes with short term engraftment of human CD34+ hematopoietic progenitor cells. *J Virol* Aug;85(15):7710-8 [PubMed: 21593150]
- Brehm MA, et al. 2010. Parameters for establishing humanized mouse models to study human immunity: analysis of human hematopoietic stem cell engraftment in three immunodeficient strains of mice bearing the IL2rgamma(null) mutation. *Clin Immunol* 135(1):84-98. [PubMed: 20096637]
- Brehm MA; Racki WJ; Leif J; Burzenski L; Hosur V; Wetmore A; Gott B; Herlihy M; Ignatz R; Dunn R; Shultz LD; Greiner DL. 2012. Engraftment of human HSC in non-irradiated newborn NOD-scid IL2rgamma null mice is enhanced by transgenic expression of membrane-bound human SCF. *Blood* . [PubMed: 22246028]
- Brehm MA, et al. 2013. Humanized mice for the study of infectious diseases. *Curr Opin Immunol* 25(4):428-435. [PubMed: 23751490]
- Brehm MA, Wiles MV, Greiner DL, Shultz LD. 2014. Generation of improved humanized mouse models for human infectious diseases. *J Immunol Methods.* Aug;410:3-17. [PMID: 24607601]
- Boska MD; Dash PK; Knibbe J; Epstein AA; Akhter SP; Fields N; High R; Makarov E; Bonasera S; Gelbard HA; Poluektova LY; Gendelman HE; Gorantla S. 2015. Associations between brain microstructures; metabolites; and cognitive deficits during chronic HIV-1 infection of humanized mice. *Mol Neurodegener.* Dec 18;9(1):58. [PubMed ID: 25523287]
- Calderon VE; Valbuena G; Goetz Y; Judy BM; Huante MB; Sutjita P; Johnston RK; Estes DM; Hunter RL; Actor JK; Cirillo JD; Endsley JJ. 2013. A humanized mouse model of tuberculosis. *PLoS One.* May 17;8(5):e63331. [PubMed ID:23691024]
- Covassin L, et al. 2013. Human immune system development and survival of non-obese diabetic (NOD)-scid IL2rgamma(null) (NSG) mice engrafted with human thymus and autologous haematopoietic stem cells. *Clin Exp Immunol* 174(3):372-388. [PubMed: 23869841]
- Cox J, et al. 2012. Mosquito bite delivery of dengue virus enhances immunogenicity and pathogenesis in humanized mice. *J Virol* 86(14):7637-7649. [PubMed: 22573866]
- Danner R; Chaudhari SN; Rosenberger J; Surls J; Richie TL; Brumeau TD; Casares S. 2011. Expression of HLA Class II Molecules in Humanized NOD.Rag1KO.IL2RgKO Mice Is Critical for Development and Function of Human T and B Cells. *PLoS One* 6(5):e19826. [PubMed: 21611197]

技術的な情報に関しては、

micetech@jax.org

jax.org/technical-support

へご連絡をお願いいたします。

- Denton PW, Garcia JV. 2011. Humanized mouse models of HIV infection. *AIDS Rev* 13(3):135-148. [PubMed: 21799532]
- Ernst W; Zimara N; Hanses F; Männel DN; Seelbach- Göbel B; Wege AK. 2013. Humanized Mice- a new Model to Study the Influence of Drug Treatment on Neonatal Sepsis. *Infect Immun.* May;81(5):1520-31. [PubMed: 23439310]
- Gregorovic G, Boulden EA, Bosshard R, Elgueta Karstegl C, Skalsky R, Cullen BR, Gujer C, Rämmer P, Münz C, Farrell PJ. 2015. Epstein-Barr Viruses (EBVs) Deficient in EBV-Encoded RNAs Have Higher Levels of Latent Membrane Protein 2 RNA Expression in Lymphoblastoid Cell Lines and Efficiently Establish Persistent Infections in Humanized Mice. *J Virol.* Nov;89(22):11711-4. [PubMed: 26339045]
- Heuts F; Gavier-Widén D; Carow B; Juarez J; Wigzell H; Rottenberg ME. 2013. CD4+ cell-dependent granuloma formation in humanized mice infected with mycobacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Apr 16;110(16):6482-7. [PubMed: 23559373]
- Holt N; Wang J; Kim K; Friedman G; Wang X; Taupin V; Crooks GM; Kohn DB; Gregory PD; Holmes MC; Cannon PM. 2010. Human hematopoietic stem/progenitor cells modified by zinc-finger nucleases targeted to CCR5 control HIV-1 in vivo. *Nat Biotechnol* Aug;28(8):839-47 [PubMed: 20601939]
- Ishikawa F, et al. 2005. Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/ IL2 receptor {gamma} chain(null) mice. *Blood* 106(5):1565-1573. [PubMed: 15920010]
- Jaiswal S, Pearson T, Friberg H, Shultz LD, Greiner DL, Rothman AL, Mathew A. 2009. Dengue virus infection and virus-specific HLA-A2 restricted immune responses in humanized NOD-scid IL2rgammanull mice. *PLoS One.* Oct 5;4(10):e7251. doi: 10.1371/journal.pone.0007251. [PubMed: 19802382]
- Jaiswal S, et al. 2012. Enhanced humoral and HLAA2- restricted dengue virus-specific T-cell responses in humanized BLT NSG mice. *Immunology* 136(3):334-343. [PubMed: 22384859]
- Jiménez-Díaz MB; Viera S; Ibáñez J; Mulet T; Magán- Marchal N; Garuti H; Gómez V; Cortés-Gil L; Martínez A; Ferrer S; Fraile MT; Calderón F; Fernández E; Shultz LD; Leroy D; Wilson DM; García-Bustos JF; Gamo FJ; Angulo-Barturen I. 2013. A new in vivo screening paradigm to accelerate antimalarial drug discovery. *PLoS One.* Jun 25;8(6):e66967. [PubMed ID:23825598]
- Keskin DB; Reinhold BB; Zhang GL; Ivanov AR; Karger BL; Reinherz EL. 2015. Physical detection of influenza A epitopes identifies a stealth subset on human lung epithelium evading natural CD8 immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(7):2151-6. [PubMed: 25646416]
- King M, Pearson T, Shultz LD, Leif J, Bottino R, Trucco M, Atkinson MA, Wasserfall C, Herold KC, Woodland RT, Schmidt MR, Woda BA, Thompson MJ, Rossini AA, Greiner DL. 2008. A new Hu-PBL model for the study of human islet alloreactivity based on NOD-scid mice bearing a targeted mutation in the IL-2 receptor gamma chain gene. *Clin Immunol.* 2008 Mar;126(3):303-14. [PubMed: 18096436]
- King MA, et al. 2009. Human peripheral blood leucocyte non-obese diabetic-severe combined immunodeficiency interleukin-2 receptor gamma chain gene mouse model of xenogeneic graft-versus-host-like disease and the role of host major histocompatibility complex. *Clin Exp Immunol* 157(1):104-118. [PubMed: 19659776]
- Lee J; Brehm MA; Greiner D; Shultz LD; Kornfeld H. 2013. Engrafted human cells generate adaptive immune responses to Mycobacterium bovis BCG infection in humanized mice. *BMC Immunol.* Dec 7; 14:53. [PubMed: 24313934]
- Li L; Krymskaya L; Wang J; Henley J; Rao A; Cao LF; Tran CA; Torres-Coronado M; Gardner A; Gonzalez N; Kim K; Liu PQ; Hofer U; Lopez E; Gregory PD; Liu Q; Holmes MC; Cannon PM; Zaia JA; Digiusto DL. 2013. Genomic Editing of the HIV-1 Coreceptor CCR5 in Adult Hematopoietic Stem and Progenitor Cells Using Zinc Finger Nucleases. *Mol Ther.* Jun;21(6):1259-69. [PubMed: 23587921]

- Lu R; Wu S; Zhang Y; Xia Y; Huelsmann EJ; Lacey AT; Nabatiyan A; Richards MH; Narasipura SD; Lutgen V; Chen H; Kaufman HL; Chen D; Al-Harhi L; Zloza A; Sun J. 2014. HIV Infection Accelerates Gastrointestinal Tumor Outgrowth in NSG-HuPBL Mice. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Apr 3. [PubMed: 24593860]
- Lüdtke A, Oestereich L, Ruibal P, Wurr S, Pallasch E, Bockholt S, Ip WH, Rieger T, Gómez-Medina S, Stocking C, Rodríguez E, Günther S, Muñoz-Fontela C. 2015. Ebola virus disease in mice with transplanted human hematopoietic stem cells. *J Virol*. Apr;89(8):4700-4. [PMID:25673711]
- Ma SD; Yu X; Mertz JE; Gumperz JE; Reinheim E; Zhou Y; Tang W; Burlingham WJ; Gulley ML; Kenney SC. 2012. An Epstein-Barr virus (EBV) mutant with enhanced BZLF1 expression causes lymphomas with abortive lytic EBV infection in a humanized mouse model. *J Virol* Aug;86(15):7976-87. [PubMed: 22623780]
- McDermott SP, et al. 2010. Comparison of human cord blood engraftment between immunocompromised mouse strains. *Blood* 116(2):193-200. [PubMed: 20404133]
- Mota J, Rico-Hesse R. 2009. Humanized mice show clinical signs of dengue fever according to infecting virus genotype. *J Virol* 83(17):8638-8645. [PubMed: 19535452]
- Nixon CC; Vatakis DN; Reichelderfer SN; Dixit D; Kim SG; Uittenbogaart CH; Zack JA. 2013. HIV-1 Infection of hematopoietic progenitor cells in vivo in humanized mice. *Blood*. [Epub ahead of print] [PubMed ID: 23886835]
- Notta F, et al. 2010. Engraftment of human hematopoietic stem cells is more efficient in female NOD/SCID/IL-2Rgc-null recipients. *Blood* 115(18):3704-3707. [PubMed: 20207983]
- Pearson T, et al. 2008. Creation of "humanized" mice to study human immunity. *Curr Protoc Immunol* Chapter 15:Unit 15 21. [PubMed: 18491294]
- Quintin J; Voigt J; van der Voort R; Jacobsen ID; Verschueren I; Hube B; Giamarellos-Bourboulis EJ; van der Meer JW; Joosten LA; Kurzai O; Netea MG. 2014. Differential role of NK cells against *Candida albicans* infection in immunocompetent or immunocompromised mice. *Eur J Immunol*. May 27; 44(8):2405-14. [PubMed: 24802993]
- Robinson LN, Tharakaraman K, Rowley KJ, Costa VV, Chan KR, Wong YH, Ong LC, Tan HC, Koch T, Cain D, Kirloskar R, Viswanathan K, Liew CW, Tissire H, Ramakrishnan B, Myette JR, Babcock GJ, Sasisekharan V, Alonso S, Chen J, Lescar J, Shriver Z, Ooi EE, Sasisekharan R. 2015. Structure-Guided Design of an Anti-dengue Antibody Directed to a Non-immunodominant Epitope. *Cell*. Jul 30;162(3):493-504. [PubMed: 26189681]
- Rowe J, Greenblatt RJ, Liu D, Moffat JF. 2010. Compounds that target host cell proteins prevent varicella-zoster virus replication in culture, ex vivo, and in SCID-Hu mice. *Antiviral Res* 2010 Jun;86(3):276-85. [PubMed: 20307580]
- Sampey GC, Saifuddin M, Schwab A, Barclay R, Punya S, Chung MC, Hakami RM, Asad Zadeh M, Lepene B, Klase ZA, El-Hage N, Young M, Iordanskiy S, Kashanchi F. Exosomes from HIV-1 infected cells stimulate production of pro-inflammatory cytokines through TAR RNA. *J Biol Chem*. 2015 Nov 9. [PMID: 26553869]
- Seay K; Church C; Zheng JH; Deneroff K; Ochsenbauer C; Kappes JC; Liu B; Jeng EK; Wong HC; Goldstein H. In Vivo Activation of Human NK cells by Treatment with an IL-15 Superagonist Potently Inhibits Acute In Vivo HIV-1 Infection in Humanized Mice. *J Virol*. 2015 Apr 1. Epub ahead of print. [PubMed: 25833053]
- Shultz LD, et al. 2007. Humanized mice in translational biomedical research. *Nat Rev Immunol* 7(2):118-130. [PubMed: 17259968]
- Shultz LD, et al. 2012. Humanized mice for immune system investigation: progress, promise and challenges. *Nat Rev Immunol* 12(11):786-798. [PubMed: 23059428]

- Livingston-Rosanoff D; Daley-Bauer LP; Garcia A; McCormick AL; Huang J; Mocarski ES. 2012. Antiviral T cell response triggers cytomegalovirus hepatitis in mice. *J Virol*. Dec;86(23):12879-90. [PubMed: 22993151]
- Shultz LD, Saito Y, Najima Y, Tanaka S, Ochi T, Tomizawa M, Doi T, Sone A, Suzuki N, Fujiwara H, Yasukawa M, Ishikawa F. 2010. Generation of functional human T-cell subsets with HLA-restricted immune responses in HLA class I expressing NOD/SCID/IL2r gamma(null) humanized mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jul 20;107(29):13022-7. [PMID: 20615947]
- Skirecki T, Kawiak J, Machaj E, Pojda Z, Wasilewska D, Czubak J, Hoser G. Early severe impairment of hematopoietic stem and progenitor cells from the bone marrow caused by CLP sepsis and endotoxemia in a humanized mice model. *Stem Cell Res Ther*. 2015 Aug 14;6(1):142. [PMID: 26272069]
- Smith MS; Goldman DC; Bailey AS; Pfaffle DL; Kreklywich CN; Spencer DB; Othieno FA; Streblov DN; Garcia JV; Fleming WH; Nelson JA. 2010. Granulocyte-colony stimulating factor reactivates human cytomegalovirus in a latently infected humanized mouse model. *Cell Host Microbe* Sep 16;8(3):284-91. [PubMed: 20833379]
- Sonntag K, Eckert F, Welker C, Müller H, Müller F, Zips D, Sipos B, Klein R, Blank G, Feuchtinger T, Schumm M, Handgretinger R, Schilbach K. Chronic graft-versus-host-disease in CD34⁺-humanized NSG mice is associated with human susceptibility HLA haplotypes for autoimmune disease. *J Autoimmun*. 2015 Jul 2. Epub ahead of print. [PMID: 26143958]
- Sridharan A; Chen Q; Tang KF; Ooi EE; Hibberd ML; Chen J. 2013. Inhibition of Megakaryocyte Development in the Bone Marrow Underlies Dengue Virus-induced Thrombocytopenia in Humanized Mice. *J Virol*. [Epub ahead of print] [PubMed ID: 23966397]
- Strowig T, et al. 2009. Priming of protective T cell responses against virus-induced tumors in mice with human immune system components. *J Exp Med* 206(6):1423-1434. [PubMed: 19487422]
- Spranger S; Frankenberger B; Schendel DJ. 2012. NOD/scid IL-2Rnull mice: a preclinical model system to evaluate human dendritic cell-based vaccine strategies in vivo. *J Transl Med* Feb 25;10:30. [PubMed: 22364226]
- Theocharides AP, Rongvaux A, Fritsch K, Flavell RA, Manz MG. 2016. Humanized hemato-lymphoid system mice. *Haematologica*. 2016 Jan;101(1):5-19. [PMID: 26721800]
- Tanaka S, Saito Y, Kunisawa J, Kurashima Y, Wake T, Suzuki N, Shultz LD, Kiyono H, Ishikawa F. 2012. Development of mature and functional human myeloid subsets in hematopoietic stem cell-engrafted NOD/SCID/IL2r γ KO mice. *J Immunol*. 2012 Jun 15;188(12):6145-55. [PMID: 22611244.]
- Wahl A; Linnstaedt SD; Esoda C; Krisko JF; Martinez-Torres F; Delecluse HJ; Cullen BR; Garcia JV. 2013. A Cluster of Virus-encoded microRNAs Accelerates Acute Systemic Epstein-Barr Virus Infection but does not Significantly Enhance Virus-induced Oncogenesis In Vivo. *J Virol*. May;87(10):5437-46. [PubMed: 23468485]
- Wang Z, Zhu K, Bai W, Jia B, Hu H, Zhou D, Zhang X, Zhang X, Xie Y, Bourguine MM, Michel ML, Lan K, Deng Q. Adenoviral delivery of recombinant hepatitis B virus expressing foreign antigenic epitopes for immunotherapy of persistent viral infection. *J Virol*. 2014 Mar;88(5):3004-15. [PMID: 24371056.]
- Wege AK; Florian C; Ernst W; Zimara N; Schleicher U; Hanses F; Schmid M; Ritter U. 2012. Leishmania major Infection in Humanized Mice Induces Systemic Infection and Provokes a Nonprotective Human Immune Response. *PLoS Negl Trop Dis*. Jul;6(7):e1741. [PubMed:22848771]
- Zhang J; Mulvenon A; Makarov E; Wagoner J; Knibbe J; Kim JO; Osna N; Bronich TK; Poluektova LY. 2013. Antiviral peptide nanocomplexes as a potential therapeutic modality for HIV/HCV co-infection. *Biomaterials*. May;34(15):3846-57. [PubMed: 23403120]

JAX® Mice, Clinical & Research Services

The Jackson Laboratory

Maine | Connecticut | California | Japan | China

ask@jax.or.jp

www.jax.or.jp

WPJ18-01A

